

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2021.03.011

基于环境 DNA 宏条形码技术的北京地区 鱼类多样性调查和外来鱼种入侵风险评估

刘 波¹, 王 浩^{1,2}, 秦 斌¹, 范仲儒¹, 熊 薇², 陈义永^{2*}
¹北京市水文总站, 北京 100089; ²中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085

摘要:【目的】调查北京地区鱼类多样性和群落分布及评估外来鱼种的入侵风险。【方法】选取北京地区水库、湖泊和河流 3 种水体类型共 33 个采样点, 于 2020 年 6 月 10—17 日开展水生态监测, 利用环境 DNA 宏条形码技术对各样点的鱼类多样性和群落结构进行监测和分析, 对目前北京地区水生生态系统中本地鱼种和外来鱼种进行分类汇总, 并评估典型外来入侵鱼种的入侵风险。【结果】本次调查共检测到 52 种淡水鱼类, 隶属于 7 目 22 科 43 属。首先, 物种多样性和群落结构(主坐标 PCOA 分析和相似性 ANOSIM 分析)结果表明, 水库、湖泊和河流 3 种水体类型的所有鱼类物种多样性和群落结构没有显著差异, 不同水体类型中鱼类物种存在同质化现象。优势度分析结果显示, 3 种水体类型的优势种绝大部分是交叠的, 不同水体类型特有的优势种较少。但山区自然水体样点的鱼类物种多样性和生物量高于城区各样点, 表明人类活动和城市化进程等可能对北京市河流鱼类多样性和群落空间分布产生影响。其次, 通过与历史记载比较, 北京地区的本地鱼类多样性呈下降趋势。本次检测到 39 种北京地区的本地原生鱼种, 远远低于历史记载(83 种)。此外, 本次调查发现北京地区外来鱼种的比例大大增加, 共检测到 13 种外来鱼种。其中, 尼罗罗非鱼、大口黑鲈、蟾胡鲶、加蓬胡鲶、饰妆铠弓鱼和坦噶尼喀口孵非鲫 6 种属于外来入侵鱼种。最后, 借助 FISK V2 指标体系对外来入侵鱼类入侵风险进行评估, 结果表明, 上述 6 种外来入侵鱼种在北京地区均具有高入侵风险, 可对当地物种多样性产生严重影响, 需密切关注其种群动态。【结论】本研究利用环境 DNA 宏条形码技术对北京地区的鱼类多样性开展调查, 有助于了解现阶段北京地区鱼类资源的本底数据, 同时为原生鱼类的保护和外来入侵鱼类的监管提供科学指导。

关键词: 环境 DNA 宏条形码技术; 物种多样性; 群落结构; 本地鱼种; 外来入侵鱼种; 入侵风险



开放科学标识码
(OSID 码)

Environmental DNA metabarcoding-based monitoring of fish diversity and screening invasion risk of non-native fishes in the Beijing area

LIU Bo¹, WANG Hao^{1,2}, QIN Bin¹, FAN Zhongru¹, XIONG Wei², CHEN Yiyong^{2*}
¹Beijing Hydrology Center, Beijing 100089, China;
²Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

Abstract: 【Aim】 To investigate species diversity and community patterns of freshwater fish and assess the potential invasiveness of non-native fish in the Beijing area. 【Method】 We sampled 33 sites from three types of freshwater ecosystems in Beijing, including reservoirs, lakes, and rivers, during June 10–17, 2020. We used the environmental DNA metabarcoding approach to analyze species diversity, classified the identified fish into native and non-native species. Lastly, a risk-screening procedure was performed to assess the invasion risk of alien invasive fish in Beijing using the Aquatic Species Invasiveness Screening Kit (AS-ISK). 【Result】 We detected 52 species of freshwater fishes belonging to seven orders, 22 families, and 43 genera. First, based on the PCOA and ANOSIM analyses, we found no significant difference in fish diversity and community composition in reservoirs, lakes, and rivers. Most of the dominant species were shared among three water types, and few were unique. Both the fish diversity and biomass at sites

收稿日期(Received): 2021-01-27 接受日期(Accepted): 2021-03-02
基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31800307)
作者简介: 刘波, 男, 硕士, 高级工程师。研究方向: 水环境与水生态。E-mail: 597495510@qq.com
* 通信作者(Author for correspondence), E-mail: yychen@rcees.ac.cn

sampled from mountainous regions were higher than those from the urban regions, suggesting that human activities and urbanization could significantly influence freshwater fish diversity and community composition. Species richness of fish in Beijing was lower compared to historical records. A total of 39 native fish were detected in our study, which was far lower than the previous record of 83 species. We detected an increasing number of alien fish, including six invasive species, namely, *Ov niloticus*, *Micropterus salmoides*, *Clarias batrachus*, *Clarias gabonensis*, *Chitala ornate*, and *Oreochromis tanganicae*. Finally, the invasion risk assessment revealed that all six invasive fish showed high invasion risk in Beijing, which could seriously affect local species diversity, indicating that we should pay increasing attention to their population dynamics. 【Conclusion】 In this study, we adopted the environmental DNA metabarcoding technology to assess species diversity of freshwater fishes in Beijing. Our findings not only contribute to a better understanding of the background data of fish resources in Beijing at present, but also provide appropriate guidance for the protection of native fishes and management of alien invasive fish.

Key words: environmental DNA metabarcoding technology; species diversity; community structure; native fish; alien invasive fish; invasion risk

鱼类是水生生态系统中不可替代的重要组成部分,对于水生态环境健康与平衡、水资源保护和人类生活都具有重要价值(张姍,2020; Holmlund & Hammer,1999)。随着全球化进程的加快和人类活动的加剧,全球淡水鱼类多样性和种群数量急剧下降,淡水鱼类成为受威胁程度最严重的类群之一(Dudgeon *et al.*,2006; Guo *et al.*,2019)。根据2020年世界自然保护联盟(International Union for Conservation of Nature, IUCN)脊椎动物濒危物种评估结果,被列入红色名录的濒危鱼类高达2721种,而且近10年来濒危鱼类物种数目一直排在脊椎动物类群之首。目前,淡水鱼类面临的威胁主要集中在水体污染、过度捕捞、外来物种入侵、栖息地丧失与破碎化以及城市化进程等(Dudgeon *et al.*,2006; Vörösmarty *et al.*,2010)。现今,包括水产养殖、压舱水、船壳污损以及观赏动植物的释放等频繁的人类活动,导致越来越多的外来生物被引入水生生态系统中,而外来物种的大量引入又进一步加剧了人类活动对水生生态系统的结构、功能的影响(Dudgeon *et al.*,2006; Strayer,2010)。相比于其他生态系统,淡水生态系统更容易受入侵物种的影响,其中外来入侵鱼类被认为是造成水生鱼类多样性下降的主要原因(Haubrock *et al.*,2020)。据报道,意大利阿尔诺河鱼类群落在2个世纪内发生完全改变,土著鱼类已几乎完全被外来鱼类所替代(1800年:92%土著鱼种;2015年:94%外来鱼种)。北京地区河湖纵横,境内分布有425条河流、41个湖泊、88座水库,淡水鱼类资源比较丰富(潘术香,2004)。资料显示,北京地区共有93种鱼类,隶属于13目23科73属,物种数占全国淡水鱼类总数的7.03%,其中本地原生鱼类历史记录为83种(张春光等,

2011)。但自20世纪中叶以来,北京原生鱼种数目骤减,外来鱼种数大幅增加,这导致北京地区鱼类多样性和群落结构发生改变(张春光等,2011)。2010年北京鱼类调查只发现43种本地原生鱼类,外来鱼种在北京许多水体中已成为优势种(张春光等,2011)。这表明北京地区水生生态系统中鱼类资源面临巨大威胁,鱼类保护和恢复工作刻不容缓。因此,为保护北京鱼类多样性亟需开展鱼类调查和评估工作。

建立快速、高效的鱼类多样性监测方法是鱼类保护和管理的核心(Rees *et al.*,2014)。传统鱼类多样性调查方法主要利用拖网、电捕、地笼等捕捞方式,通过对渔获物进行形态学鉴定和计数称重,识别鱼类物种种类并统计丰度与生物量(刘焕章等,2016; 张姍,2020)。传统方法生态损伤性大、工作量大、灵敏度低、对鉴定人员要求高,直接影响鱼类鉴定的准确度和效率,为加强鱼类保护和管理的需要,需要建立集快速、高效、灵敏和高通量于一体的新型鱼类多样性监测方法。新兴的环境DNA宏条形码(environmental DNA metabarcoding, eDNA metabarcoding)技术可直接从环境样品(如水、土壤、空气)中提取DNA,利用针对目标类群设计的引物,通过PCR扩增和高通量测序(high-throughput sequencing, HTS),实现对环境样本中多个目标物种的识别鉴定(陈星宇等,2020; Piper *et al.*,2019)。基于环境DNA技术的鱼类监测方法采用非损伤性的取样方式,操作步骤简单高效、灵敏度高,且不求检测人员掌握完备的形态分类学知识,因此该技术在鱼类多样性监测和评估方面具有极大的应用潜能(Rees *et al.*,2014; Thomsen & Willerslev,2015)。近年来,环境DNA技术广泛应用于物种组

成和分布调查、外来入侵物种检测及濒危物种监测等(张姗,2020)。高通量测序技术的快速发展使得利用环境 DNA 方法开展大规模生物群落物种多样性的调查监测成为可能(Thomsen & Willerslev, 2015)。外来物种在入侵初期群体规模较小,是对其进行控制和消灭的关键时期,但是入侵初期其种群密度极低,从复杂群落中检测出这些低丰度目标生物成为构建早期检/监测和预警体系的关键,环境 DNA 方法在水生外来入侵生物的早期监测与预警中具有广阔的应用前景(李晗溪等,2019)。例如,Evans *et al.* (2016)借助环境 DNA 方法从水库中检测出以前传统方法监测到的所有鱼类,并监测到一些以前从未检测到的鱼类物种。目前,国内利用环境 DNA 宏条形码技术进行鱼类多样性的调查研究相对欠缺(舒璐等,2020; Zhang *et al.*, 2019)。

本研究利用环境 DNA 宏条形码技术对北京地区不同水体类型中鱼类多样性和群落结构进行监测和分析,并以监测结果为基础,汇总了目前北京地区水生态系统的本地鱼种和外来鱼种,评估了典型外来入侵鱼种的入侵风险。

1 材料与方法

1.1 采样点设置与水样采集

本研究监测工作于 2020 年 6 月 10—17 日进行,设置 6 个水库(RE)采样点、7 个湖泊(LA)采样点和 20 个河流(RI)采样点,共计 33 个点位(S34~S66;图 1)。利用取水器在每个样点采集 1 L 的表层环境水样,倒入干净的广口瓶中,并立即置于车载冰箱中低温保存。

1.2 环境 DNA 提取、PCR 扩增与高通量测序

1.2.1 环境 DNA 富集 水样在采集当天运回实验室 3 h 内完成抽滤工作,利用 0.45 μm 的混合纤维滤膜对采集水样进行真空抽滤以富集环境 DNA,每份样品过滤后的滤膜立即冷冻保存(−20 ℃)。

1.2.2 环境 DNA 提取 参照 Zhang *et al.* (2020b)的方法,使用 DNA 提取试剂盒 DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, 69506)对滤膜上的 DNA 进行提取,利用 NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)检测 DNA 的浓度和质量后,将每份样品所得的环境 DNA 溶液迅速置于−80 ℃低温保存,直至下一步 PCR 扩增。

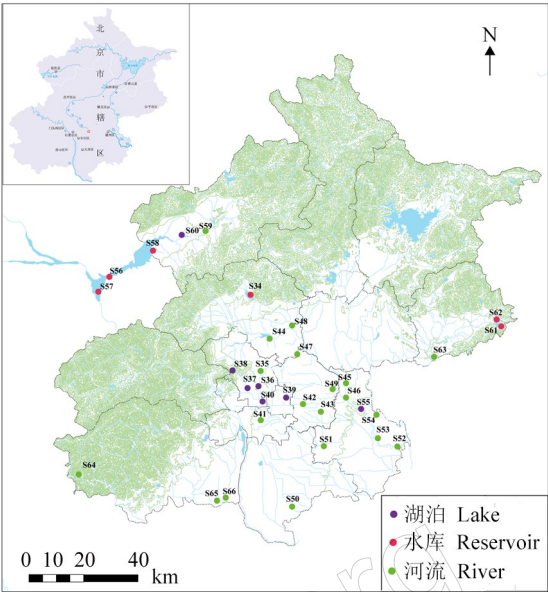


图 1 北京地区采样点分布图
Fig.1 The location of the sampling sites in the Beijing area

1.2.3 环境 DNA 扩增与建库测序 本研究选择淡水鱼类线粒体 12S 通用宏条形码扩增引物: Fish-F1/R1.1(杨江华和张效伟,2019)。此引物已证实对淡水鱼类具有扩增效率高、灵敏度高、群落覆盖度广的特点,且扩增 PCR 产物长度(约 180 bp)适合高通量测序平台,可作为淡水鱼类环境 DNA 宏条形码监测方法的理想引物。正反向引物的序列分别是: Fish_F1-TCGTGCCAGCCACC GCGGTTA, Fish_R1.1-ATAGTGGGGTATCTAATCCCAG。50 μL PCR 扩增体系如下: 5 μL 的 10×buffer⁺, 4 μL 的 dNTPs, 正反向引物各 3, 0.4 μL 的 TaKaRa Taq 酶, 30.6 μL 的 ddH₂O, 4 μL 的模板 DNA (10 ng · μL⁻¹)。PCR 扩增程序为: 95 ℃ 预变性 5 min; 35 个循环包括: 95 ℃ 变性 30 s, 58 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 30 s; 最后 72 ℃ 延伸 10 min。为了混样建库并进行高通量测序,在引物的 5'端加入序列各异的 8 个核苷酸作为标签(barcode)以区分不同样品,共设计了 19 对带特异性标签的引物,因此本研究中 33 个样品只需要构建 2 个文库即可。每份样品重复 PCR 扩增 3 次,将同一样品的 PCR 产物混合后,利用 1.5%的琼脂凝胶电泳进行条带检测,再利用柱式 PCR 产物纯化试剂盒(Sangon Biotech, Shanghai, China)纯化 PCR 产物,将纯化后的 PCR 产物等量混合,完成测序文库的构建并利用 Illumina NovaSeq 测序平台进行 PE150 双端测序。

1.3 数据分析

1.3.1 高通量测序数据处理 利用 USEARCH 软件对高通量测序后的原始序列进行拼接、滤错、序列剪齐、去重复,借助 UNOISE 算法的 unoise3 命令进行聚类,得到 ZOTU(zero-radius OTU)和对应的序列信息,获取 OTU table 文件。利用 Seed 软件的 BLASTn 功能将所有 OTU 对应的序列与 NCBI 网站上下载的鱼类本地数据库进行比对,得到每个 OTU 的分类界元。其中,比对结果筛选标准为: E 值 $<10^{-70}$,最小覆盖度(coverage) $>80\%$,序列相似度(identity) $>85\%$ (Yang *et al.*, 2019)。为了降低假阳性,最终只保留至少 3 条序列的淡水鱼类物种用于后续分析。

1.3.2 鱼类多样性分析 为分析比较不同采样点和水体类型间鱼类多样性水平,利用 PRIMER 6.0 软件计算 Margalef 物种丰富度(d)、香农多样性(H')和 Pielou 均匀度(J)等多样性指数,对 3 种水体类型的鱼类物种多样性差异进行 Wilcoxon 秩和检验($p=0.05$),利用每个样本中 OTU 相对丰度信息计算样本间 Bray-Curtis 距离,进行主坐标 PCOA 计算和作图,并结合 ANOSIM 分析检验不同区域群落之间的相似性。在进行 PCOA 分析前,物种数据采用平方根标准化以增加数据的正态性。此外,利用优势度公式 $Y=N_i \times f/N$ (陈义永等, 2018)识别 3 种水体类型的优势鱼种,当优势度值 $Y \geq 0.02$ 时,该鱼种为该区域的优势鱼种。

1.3.3 本地和外来鱼种的分类汇总及入侵风险评估 参照张姗(2020)汇总的北京地区 1984—2020 年北京淡水鱼类和历史记载,将本研究监测得到鱼类物种与之比较,以鉴定区分本地种和非本地种,重点关注非本地种中的外来物种及入侵物种。入侵物种信息参照全球入侵生物数据库(GISD: <http://www.iucngisd.org/gisd/>)、水生外来生物数据库(AquaNIS: <http://www.corpi.ku.lt/databases/index.php/aquanis/>)、中国外来入侵物种数据库(<http://www.chinaias.cn/wjPart/index.aspx>)及中国外来/入侵鱼类相关文献(Chen *et al.*, 2017; Lin *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2017; Xiong *et al.*, 2015)。本研究利用水生鱼类入侵风险评估指标体系(freshwater fish invasiveness screening kit, FISK V2; www.cefas.co.uk/nns/tools/; Copp *et al.*, 2016)对外来鱼类在

北京地区的入侵风险进行评估。FISK V2 指标体系包括鱼类的生物地理/历史、生物/生态和气候变化等相关的 55 个指标,依据最终得分结果进行入侵风险等级划分。

2 结果与分析

2.1 北京地区鱼类物种多样性与群落组成

以本研究环境 DNA 技术监测结果为基础,通过对 2 个高通量测序文库的原始序列进行质量过滤和 OTU 聚类,共获得 5530 个原始 OTU,其中 3311 个 OTU 成功比对到构建的淡水鱼类本地数据库中,最终物种注释得到 52 种淡水鱼类,隶属于 7 目 22 科 43 属。目级水平比较,鲤形目 Cypriniformes 种类最多,共计 29 种,约占鱼类总数的 55.77%;其次是鲈形目 Perciformes 12 种,占 23.08%。科级水平比较,鲤科 Cyprinidae 种类最多,共计 18 种,占 34.62%;其次是鳅科 Cobitidae 5 种,占 9.62%;沙塘鳢科 Odontobutidae 4 种,占 7.69%;其余各科物种数目都较少(1~3 种)。所有样点的相对生物量(物种序列丰度)最高的前 5 种鱼类分别是:鲫 *Carassius auratus* L.、麦穗鱼 *Pseudorasbora parva* (Temminck & Schlegel)、泥鳅 *Misgurnus anguillicaudatus* (Cantor)、青鳉 *Oryzias latipes* (Genetics)和饰妆铠弓鱼 *Chitala ornata* (Gray)(表 1)。此外,鳊 *Aristichthys nobilis* (Rich)、鲫、草鱼 *Ctenopharyngodon idella* (Val.)、鲤 *Cyprinus carpio* L.、泥鳅、大鳞泥鳅 *Misgurnus mizolepis* (Günther)、青鳉、大鳞副泥鳅 *Paramisgurnus dabryanus* Sauvage、麦穗鱼、饰妆铠弓鱼和细鳞裂腹鱼 *Schizothorax chongi* (Fang)等 11 种鱼在所有样点中均检测到,且多达 26 种鱼在超过一半的样点中被检测到。

鱼类数目最多的样点是北海(S39, 36 种)和玉渊潭西湖(S40, 36 种),圆明园福海(S38, 17 种)的鱼种数目最少。各样点香农多样性指数(H')变化范围是 1.49~2.22,最高的样点是高碑店湖(S43),最低的样点是后藕沟(S48),说明不同样点的鱼类序列相对丰度(图 2)。此外,基于物种 OTU 的 PCOA 聚类结果显示,不同样点鱼类群落结构呈现一定差异性(图 3)。上述结果表明,北京地区不同样点间物种多样性和群落结构呈现一定的空间异质性。

表 1 北京地区 3 种水体类型的鱼类优势种统计表

Table 1 Summary of the dominant species in three different waterbody types

水体类型	棒花鱼	兴凯鲌	大鳍鱬	鳊	鲫	乌鳢	斑鳢	饰妝铠弓鱼
Waterbody type	<i>Abbotina rivularis</i>	<i>Acanthorhodeus chankaensis</i>	<i>Acheilognathus macropterus</i>	<i>Aristichthys nobilis</i>	<i>Carassius auratus</i>	<i>Channa argus</i>	<i>Channa maculata</i>	<i>Chitala ornata</i>
湖泊 Lake	0.002	0.001	0	0.008	0.347	0	0.001	0.028
水库 Reservoir	0.004	0	0	0.017	0.405	0	0.001	0.043
河流 River	0.004	0.001	0.001	0.015	0.340	0.001	0.001	0.044
水体类型	塘胡鲶	加蓬胡鲶	乔氏鲶	草鱼	拟尖头鲈	鲤	暗骨尾鱼	花鲢
Waterbody type	<i>Clarias batrachus</i>	<i>Clarias gabonensis</i>	<i>Cobitis choui</i>	<i>Cenopharyngodon idella</i>	<i>Culter oxycephaloides</i>	<i>Cyprinus carpio</i>	<i>Gila nigrescens</i>	<i>Hemibarbus maculatus</i>
湖泊 Lake	0.005	0.001	0	0.020	0.001	0.029	0	0
水库 Reservoir	0.008	0	0	0.027	0	0.033	0	0
河流 River	0.010	0	0	0.030	0	0.040	0	0
水体类型	鲮	锦波鱼	印度囊鲶	尾纹鲃	北鲮	圆尾斗鱼	横口刺鲃	团头鲂
Waterbody type	<i>Hemiculter leucisculus</i>	<i>Hemigrammocypris neglectus</i>	<i>Heteropneustes fossilis</i>	<i>Labeobarbus caudovittatus</i>	<i>Lefuia costata</i>	<i>Macropodus ocellatus</i>	<i>Mastacembelus plagiosomus</i>	<i>Megalobrama amblycephala</i>
湖泊 Lake	0.005	0.007	0	0	0	0	0	0.030
水库 Reservoir	0.009	0.004	0	0	0	0	0	0.001
河流 River	0.008	0.003	0	0	0	0	0	0.009
水体类型	小黄鲃鱼	大口黑鲈	泥鳅	大鳞泥鳅	黄鲢	太湖短吻银鱼	断纹沙塘鳢	河川沙塘鳢
Waterbody type	<i>Micropercops suinhonis</i>	<i>Micropercops suinhonis</i>	<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	<i>Misgurnus mizolepis</i>	<i>Monopterus</i> sp.	<i>Neosalanx tanakankeii</i>	<i>Odontobutis interrupta</i>	<i>Odontobutis potamophilus</i>
湖泊 Lake	0	0	0.117	0.032	0	0.001	0	0
水库 Reservoir	0	0	0.154	0.041	0	0.001	0	0
河流 River	0	0	0.113	0.029	0	0.001	0	0
水体类型	马口鱼	尼罗罗非鱼	坦噶尼喀口孵非鲫	青鲮	大鳞副泥鳅	麦穗鱼	褐吻虾虎鱼	子陵吻虾虎鱼
Waterbody type	<i>Opsariichthys uncirostris</i>	<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>Oreochromis tanganyicae</i>	<i>Oryzias latipes</i>	<i>Paranisgurnus dabryanus</i>	<i>Pseudorasbora parva</i>	<i>Rhinogobius brunneus</i>	<i>Rhinogobius giurinus</i>
湖泊 Lake	0	0	0	0.056	0.013	0.249	0.004	0.005
水库 Reservoir	0	0	0	0.032	0.011	0.187	0.001	0.002
河流 River	0	0.001	0	0.064	0.015	0.195	0.012	0.002
水体类型	高体鲮	华鲮	细鳞裂腹鱼	鲃	斑鲮	兴凯银鲃	多斑银鲃	黄颡鱼
Waterbody type	<i>Rhodeus ocellatus</i>	<i>Sarcocheilichthys sinensis</i>	<i>Schizothorax chongi</i>	<i>Silurus asotus</i>	<i>Siniperca scherzeri</i>	<i>Squalidus chankaensis</i>	<i>Squalidus multimaculatus</i>	<i>Tachysurus fulvidraco</i>
湖泊 Lake	0.016	0	0.008	0	0	0	0.001	0.001
水库 Reservoir	0.006	0	0.009	0	0	0	0.001	0
河流 River	0.031	0.001	0.005	0	0	0	0	0.002
水体类型	乌苏里黄颡鱼	硬刺高原鲮	黄尾鲷	宽鳍鲮				
Waterbody type	<i>Tachysurus ussuriensis</i>	<i>Triplophysa scleroptera</i>	<i>Xenocypris davidi</i>	<i>Zacco platypus</i>				
湖泊 Lake	0	0	0	0				
水库 Reservoir	0	0	0	0				
河流 River	0	0	0	0				

表中的数值表示优势度,当优势度 $Y > 0.02$ 时,该物种为该区域优势物种,在表格中加粗数值表示。
The values in the table referred to the dominance index. When the dominance index was over 0.02, this species was considered as the dominant species in the region, which was characterized with bold.

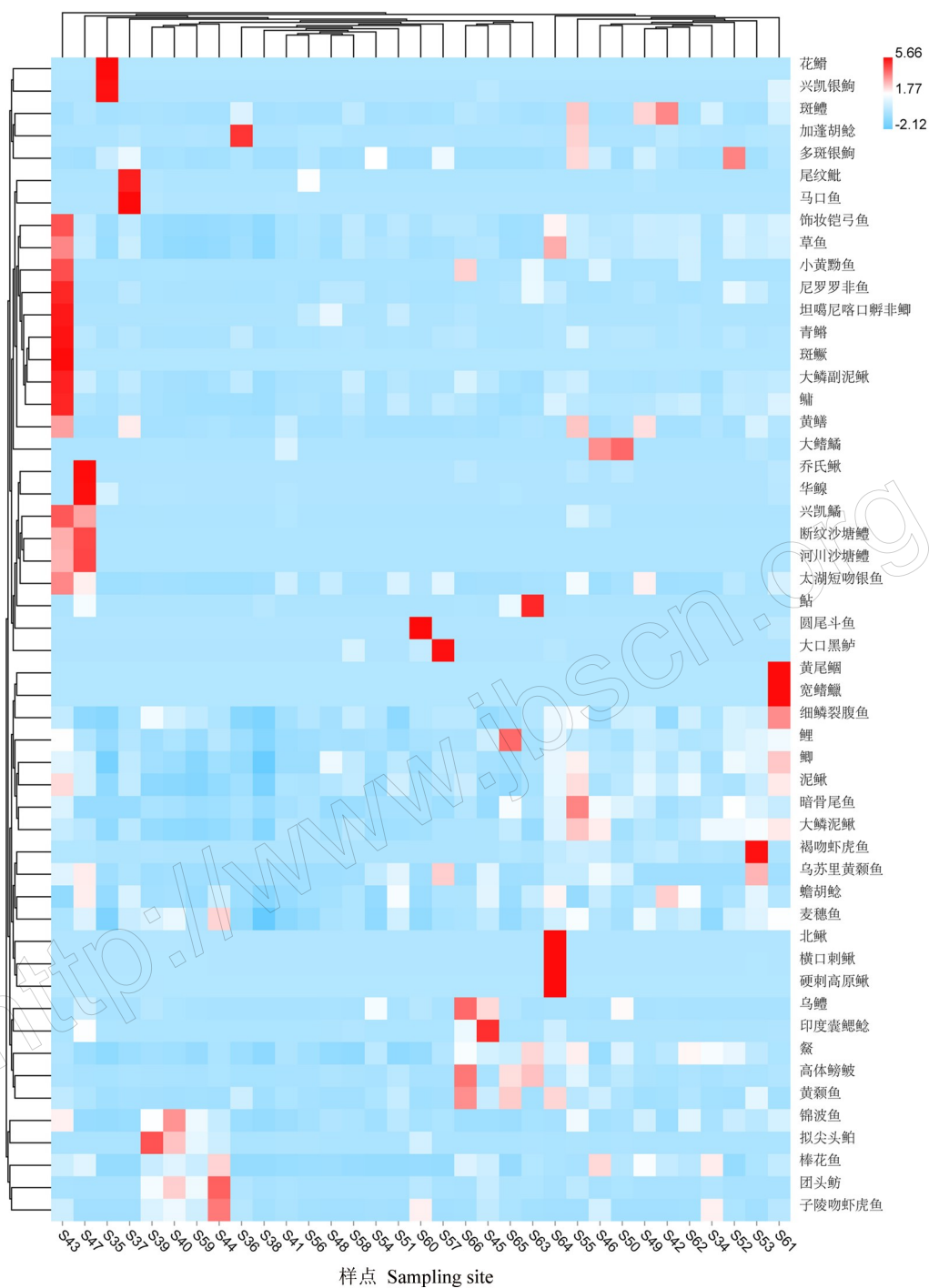


图 2 不同采样点鱼类物种相对序列丰度的热图

Fig.2 Heatmap showing the relative abundance for fish species at each sampling site

为进一步探究不同水体类型中鱼类多样性和群落结构是否存在差异,本研究中所有样点划分为水库、湖泊和河流 3 种水体类型。根据 3 种水体类型的物种多样性分析箱式图显示,3 种水体类型的鱼类物种多样性并没有显著差异(图 4)。就 Margalef 物种丰富度指数(d)而言,虽然湖泊水体最高,其次为河流水体,水库水体最低,但是三者之间的差异并不显著(两两之间的 Wilcoxon 秩和检验 p

值均大于 0.05)。PCOA(图 3)和 ANOSIM 分析结果($R=0.048, p=0.033$)也表明,3 种水体类型之间的群落结构没有显著差异。此外,3 种水体类型的优势种绝大部分是交叠的。鲫、饰妆铠弓鱼、草鱼、鲤、泥鳅、大鳞泥鳅、青鲈和麦穗鱼等 8 种鱼在 3 种水体类型均为优势种,而团头鲂 *Megalobrama amblycephala* Yih 是湖泊水体特有的优势种($Y=0.030$),高体鲃 *Rhodeus ocellatus* Kurumeus 是河

流水体特有的优势种 ($Y=0.031$) (表 1)。因此,北京地区的水库、湖泊和河流 3 种水体类型的鱼类多样性和群落结构无显著差异。

2.2 本地鱼种和外来鱼种分类汇总

与张姗(2020)汇总的北京本地鱼类库(本地种 83 种,外来种 13 种)进行比较,本研究利用环境 DNA 分别检测到 39 种本地鱼种和 13 种外来鱼种。与北京地区历史记载的 83 种本地鱼种相比,本地鱼种明显下降。此外,本研究检测到的外来鱼种中入侵种的比例较高,占外来鱼种 46.2%。说明近年来北京地区原生鱼类多样性下降明显,可能是由于大量外来入侵鱼类被引入北京地区水域,对北京本地鱼类多样性产生了严重影响。

本研究共检测到尼罗罗非鱼 *Oreochromis niloticus* (L.)、大口黑鲈 *Micropterus salmoides* Lacèpede、蟾胡鲶 *Clarias batrachus* (L.)、加蓬胡鲶 *Clarias gabonensis* Günther、饰妆铠弓鱼和坦噶尼喀口孵非鲫 *Oreochromis tanganyicae* 6 种外来入侵鱼种。饰妆铠弓鱼在所有样点中被检出;蟾胡鲶在所有水库和河

流样点(26 个)及 6 个湖泊样点中被检出;尼罗罗非鱼在 26 个样点中被检出,在河流水体中普遍存在;加蓬胡鲶在 14 个样点中被检出,水库和湖泊检出率较高;坦噶尼喀口孵非鲫和大口黑鲈分别在 7 和 4 个样点中被检出。

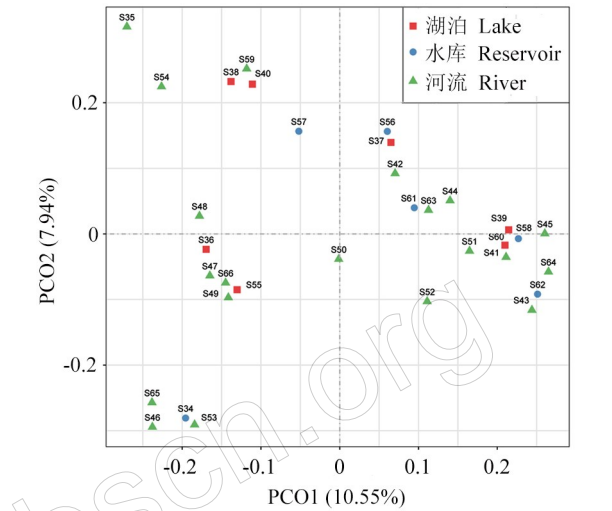


图 3 北京地区不同采样点的鱼类多样性
Fig.3 Fish diversity of different sampling sites in the Beijing area

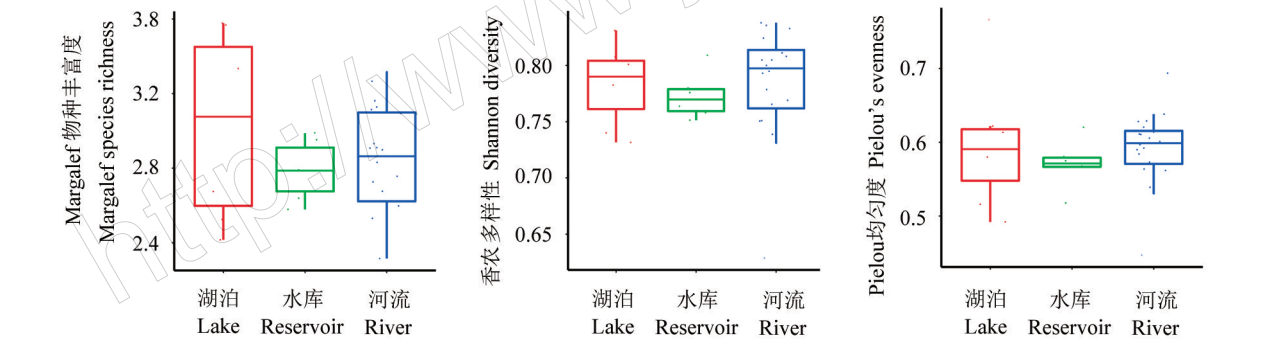


图 4 不同采样点鱼类群落组成的主坐标 PCOA 分析
Fig.4 The principal coordinate analysis (PCOA) of fish communities across all sites

2.3 外来入侵鱼类风险评估

本研究参照 FISK 打分系统说明 (Copp *et al.*, 2016) 及相关文献 (Killi *et al.*, 2019; Interesova *et al.*, 2020), 分别计算 6 种外来鱼类的 BRA (basic risk assessment) 指数和 BRA+CCA (BRA plus climate change assessment) 指数,分析外来鱼类入侵风险。根据北京水域特点和外来鱼类情况,本研究设置 BRA 指数阈值为 18,即入侵低风险(得分<0)、中风险($1\leq\text{得分}\leq18$)、高风险(得分 ≥19);设置 BRA+CCA 指数阈值设置为 28,即入侵低风险(得分<0)、中风险($1\leq\text{得分}\leq28$)、高风险(≥29)。2 种指数计算结果见表 2。根据 BRA 指数和 BRA+

CCA 指数评价结果,本研究检测到的所有 6 种外来入侵鱼类在北京地区都具有高入侵风险。

表 2 基于 FISK V2 指标体系的典型外来入侵鱼种的入侵风险评估

Table 2 Invasion risk screening of the potential invasiveness of non-native invasive fishes based on the FISK V2 kit			
种 Species	BRA 分数 BRA mark	BRA+CCA 分数 BRA+CCA mark	
大口黑鲈 <i>Micropterus salmoides</i>	27.0	39.0	
加蓬胡鲶 <i>Clarias gabonensis</i>	29.0	41.0	
坦噶尼喀口孵非鲫 <i>Oreochromis tanganyicae</i>	31.0	43.0	
饰妆铠弓鱼 <i>Chitala ornata</i>	45.5	47.5	
蟾胡鲶 <i>Clarias batrachus</i>	41.0	53.0	
尼罗罗非鱼 <i>Oreochromis niloticus</i>	43.5	55.5	

3 讨论

本研究利用环境 DNA 宏条形码技术调查分析了北京地区的鱼类多样性和群落组成现状,共检测到 52 种淡水鱼类(包括本地和外来鱼类),与张春光等(2011)、张姗(2020)调查结果差别不大。监测结果中,鲤形目鲤科的鲫鱼丰度最高且出现在所有样点中,其次是同属鲤科的麦穗鱼,这一结果与北京地区历史鱼类调查结果也一致(李雪健等,2018; 邢迎春等,2007; 张春光等,2011; 张姗,2020)。本研究结果表明,环境 DNA 技术检出了与传统鱼类多样性调查方法相当的鱼种,并检测到传统采样方法难以发现的稀有物种,例如在海子水库(S61)中检测出黄尾鲮 *Xenocypris davidi* Bleeker 和宽鳍鱲 *Zacco platypus* (Temminck et Schlegel) 2 种稀有物种,这 2 种鱼在近 5 年的传统方法调查中均未被发现。说明环境 DNA 宏条形码方法不仅可以实现快速、高效鱼类监测,还具有较高的灵敏性。由于水体中环境 DNA 存在机制较为复杂,通过环境 DNA 序列丰度评估物种、生物量等方面还有待进一步研究(Evans *et al.*, 2016; Pont *et al.*, 2018)。因此,建议将环境 DNA 宏条形码方法广泛应用于水生态监测,建立环境 DNA 水生生物多样性监测技术标准,实现对鱼类、贝类、大型水生植物、两栖类等生物监测。

本研究发现,水库、湖泊和河流 3 种水体类型的鱼类多样性和群落结构无显著差异,不同水体类型中鱼类物种同质化程度显著,这可能是引入大量外来鱼类导致的(张姗,2020; Olden *et al.*, 2004)。通过分析比较各样点间鱼类种类、生物量及多样性指数,发现山区自然水体样点的物种多样性及生物量高于城区水体样点。例如,山区海子水库东湖(S61)和八渡(S64)样点鱼类种类最多、生物量较高,而城区圆明园福海(S38)鱼类物种数目最少、生物量最低。整体而言,八渡、海子水库等山区河流、水库样点的鱼类物种多样性高、生物量大。这些处于上游山区、受人类活动影响较小、近自然状态的山区河湖,水质条件好,适合鱼类生存。而圆明园福海等城区河湖可能受城市化进程和水体污染等影响(张姗,2020)。由于北京市主要河流城市段的生境类型比较单一,渠化现象较为普遍,底质多以淤泥为主,鱼类群落空间格局遭到破坏,鱼类群落退化,具有典型的城市受干扰河流鱼类特征。此

外,城区与山区采样点的差异还可能与增殖放流有关。例如,城区河湖鱼类优势种主要为放流鱼种,例如鳊鱼,属于滤食性的鱼种,主要用于净化和改善水质。上述结果表明,人类活动和城市化进程对北京河流鱼类多样性和群落空间分布产生显著影响(李雪健等,2018; 张姗,2020)。

本研究共检测到 39 种北京地区的本地原生鱼种,远远低于历史记载本地原生鱼种(累计 83 种)。近年来北京地区鱼类多样性调查实际检测到的本地鱼种分别为 65 种(1984 年)、43 种(2011 年)和 32 种(张姗,2020),表明北京地区的本地鱼类多样性呈逐年下降趋势。据调查,在北京本地鱼类调查中有记录的原生鱼类,如乌苏里拟鲿 *Pseudobagrus ussuriensis* Dybowski 和尖头鲿 *Rhynchocypris oxycephalus* (Sauvage and Dabry) 等(李雪健等,2018; 杨文波等,2008),本次调查中所有样点均未检测到。另一方面可能是由于这些本地原生鱼种的野生种群数量极少甚至已灭绝消失。除了城市化和环境污染等人类活动干扰的影响,采样点的布设也可能是导致环境 DNA 检出原生鱼类多样性较少的一个原因。本研究主要依据北京市水生态监测的站点进行布点采样,大部分采样点位于城市中心或者郊区平原的水体,而北京地区北部和西南部的山地采样点较少,这些人为干扰较少、较为原生自然的山区水体中往往具有较高的本地鱼类多样性(李雪健等,2018; 张姗,2020),因此可能存在部分本地物种由于采样点覆盖不全而未检测到的情况。

与历史调查数据相比,本研究发现,北京地区外来鱼种的比例大大增加,而且一些外来鱼种的检出率和序列丰度超过了本地物种。说明近些年来大量外来鱼类被引入北京地区,这可能是导致北京本地鱼类多样性下降的主要原因之一。其中绝大部分外来种是因水产养殖业需要而引入北京的,有些已成为野外繁殖种群,包括团头鲂、大口黑鲈和细鳞裂腹鱼等。此外,饰妆铠弓鱼和尾纹鲃 *Labeobarbus caudovittatus* (Boulenger) 等主要作为观赏鱼养殖和放生而进入北京河湖。值得关注的是,本次调查监测到的外来鱼种中有 6 种入侵鱼种,且具有高入侵风险。其中,烈性入侵物种蟾胡鲶,在几乎所有的样点(32 个)中均检测到,而且生物量巨大,此物种原产于东南亚,现已入侵到全球众多水域,可捕食养殖鱼及蝌蚪等,并对本地鱼类有较大竞争

优势(Baber & Babbitt, 2003),已被世界自然保护联盟(IUCN)列为“世界百大外来入侵种”;原产于非洲的入侵鱼种尼罗罗非鱼,也在大部分样点(26个)中检出,此物种可吞食其他鱼类的受精卵,严重影响物种多样性;原产于北美的入侵鱼种大口黑鲈,于1983年第一次被引入中国(Ma *et al.*, 2003),现已成为我国重要的淡水养殖鱼类(李家乐, 2007; 张姗, 2020),此物种会捕食较小的原生鱼类,造成当地鱼种数量降低甚至灭绝。

综上所述,北京地区的本地鱼类多样性呈逐年下降趋势,外来鱼种的比例大大增加,且存在多种高入侵风险的鱼类,相关监管部门应建立环境DNA宏条形码鱼类监测技术平台,开展全市五大水系鱼类多样性普查性监测,针对重点河流、湖泊、水库和水源地的外来鱼种和入侵鱼种开展定期监测、科学预警和防治,通过连续性监测掌握其种群动态和危害变化,降低外来鱼类对北京水生生态系统鱼类多样性的危害。

参考文献

- 陈星宇, 刘雨泽, 郭道宇, 熊薇, 2020. 氮磷汇入驱动下的河流轮虫群落演替. 生物安全学报, 29(1): 51–58.
- 陈义永, 高养春, 彭衡, 熊薇, 李世国, 战爱斌, 2018. 松花江流域大型底栖动物群落结构与水质评价. 生物安全学报, 27(2): 95–104.
- 李晗溪, 黄雪娜, 李世国, 战爱斌, 2019. 基于环境DNA-宏条形码技术的水生生态系统入侵生物的早期监测与预警. 生物多样性, 27(5): 491–504.
- 李家乐, 2007. 中国外来水生动植物. 上海: 上海科学技术出版社.
- 李雪健, 郭久波, 牛诚祯, 黄金清, 曹坤, 何赛, 刘海波, 赵亚辉, 2018. 北京市潮白河流域鱼类物种组成的历史演变和多样性现状. 动物学杂志, 53(3): 375–388.
- 刘焕章, 杨君兴, 刘淑伟, 高欣, 陈宇顺, 张春光, 赵凯, 李新辉, 刘伟, 2016. 鱼类多样性监测的理论方法及中国内陆水体鱼类多样性监测. 生物多样性, 24(11): 1227–1233.
- 潘术香, 2004. 北京市地表水环境质量评价. 博士学位论文. 北京: 中国农业大学.
- 舒璐, 林佳艳, 徐源, 曹特, 封吉猛, 彭作刚, 2020. 基于环境DNA宏条形码的洱海鱼类多样性研究. 水生生物学报, 44(5): 1080–1085.
- 邢迎春, 赵亚辉, 李高岩, 王玉凤, 张春光, 王宝利, 常宝全, 张利军, 胡亚军, 2007. 北京市怀沙-怀九河市级水生野生动物保护区鱼类物种多样性及其资源保护. 动物学杂志, 42(1): 29–37.
- 杨江华, 张效伟, 2019. 一种淡水鱼类线粒体12S通用宏条形码扩增引物及其应用方法: CN201910341512.7. 2019–06–28.
- 杨文波, 李继龙, 李绪兴, 刘宝祥, 沈公铭, 张晓惠, 雷云雷, 李小恕, 贾静, 2008. 拒马河北京段鱼类组成及其多样性. 上海海洋大学学报, 17(2): 175–181.
- 张春光, 赵亚辉, 邢迎春, 郭瑞禄, 张清, 冯云, 樊恩源, 2011. 北京及其邻近地区野生鱼类物种多样性及其资源保育. 生物多样性, 19(5): 597–604.
- 张姗, 2020. 基于eDNA技术的鱼类多样性研究方法构建与应用——以北京地区为例. 博士学位论文. 北京: 北京大学.
- CHEN Y, SUN C, ZHAN A, 2017. Biological invasions in aquatic ecosystems in China. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 20: 402–412.
- COPP G H, VILIZZI L, TIDBURY H, STEBBING P D, TARKAN A S, MIOSEC L, GOULLETQUER P, 2016. Development of a generic decision-support tool for identifying potentially invasive aquatic taxa: AS-ISK. *Management of Biological Invasions*, 7: 343–350.
- DUDGEON D, ARTHINGTON A H, GESSNER M O, KAWABATA Z I, KNOWLER D J, LÉVÊQUE C, NAIMAN R J, PRIEUR-RICHARD A H, SOTO D, STIASNY M L, 2006. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews*, 81: 163–182.
- EVANS N T, LI Y, RENSHAW M A, OLDS B P, DEINER K, TURNER C R, JERDE C L, LODGE D M, LAMBERTI G A, PFRENDER M E, 2017. Fish community assessment with eDNA metabarcoding: effects of sampling design and bioinformatic filtering. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 74: 1362–1374.
- GUO C, CHEN Y, GOZLAN R E, LI Z, MEHNER T, LEK S, PAUKERT C P, 2019. Biogeographic freshwater fish pattern legacy revealed despite rapid socio-economic changes in China. *Fish and Fisheries*, 20: 857–869.
- HAUBROCK P J, PILOTTO F, INNOCENTI G, CIANFANELLI S, HAASE P, 2020. Two centuries for an almost complete community turnover from native to non-native species in a riverine ecosystem. *Global Change Biology*, 27(4): 1–18.
- HOLMLUND C, HAMMER M, 1999. Ecosystem services generated by fish populations. *Ecological Economics*, 29: 253–268.
- LIN Y, GAO Z, ZHAN A, 2015. Introduction and use of non-native species for aquaculture in China: status, risks and management solutions. *Reviews in Aquaculture*, 7: 28–58.
- LIU C, HE D, CHEN Y, OLDEN J D, 2017. Species inva-

- sions threaten the antiquity of China's freshwater fish fauna. *Diversity and Distributions*, 23(5): 556–566.
- MA X, XIONG B, WANG Y, WANG M, 2003. Internationally introduced and transferred fishes in China's inland waters. *Asian Fisheries Science*, 16: 279–290.
- PIPER A M, BATOVSKA J, COGAN N O I, WEISS J, CUNNINGHAM J P, RODONI B C, BLACKET M J, 2019. Prospects and challenges of implementing DNA metabarcoding for high-throughput insect surveillance. *GigaScience*, 8: 1–22.
- REES H C, MADDISON B C, MIDDLEDITCH D J, PATMORE J R, GOUGH K C, 2014. The detection of aquatic animal species using environmental DNA — A review of eDNA as a survey tool in ecology. *Journal of Applied Ecology*, 51: 1450–1459.
- STRAYER D L, 2010. Alien species in fresh waters: ecological effects, interactions with other stressors, and prospects for the future. *Freshwater Biology*, 55: 152–174.
- THOMSEN P F, WILLERSLEV E, 2015. Environmental DNA — An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation*, 183: 4–18.
- VÖRÖSMARTY C J, MCINTYRE P B, GESSNER M O, DUDGEON D, PRUSEVICH A, GREEN P, GLIDDEN S, BUNN S E, SULLIVAN C A, LIERMANN C R, 2010. Global threats to human water security and river biodiversity. *Nature*, 467: 555–561.
- XIONG W, NI P, CHEN Y, GAO Y, SHAN B, ZHAN A, 2017. Zooplankton community structure along a pollution gradient at fine geographical scales in river ecosystems: the importance of species sorting over dispersal. *Molecular Ecology*, 26: 4351–4360.
- XIONG W, SUI X, LIANG S H, CHEN Y, 2015. Non-native freshwater fish species in China. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 25: 651–687.
- YANG Y, LI S, GAO Y, CHEN Y, ZHAN A, 2019. Environment-driven geographical distribution of bacterial communities and identification of indicator taxa in Songhua River. *Ecological Indicators*, 101: 62–70.
- ZHAN A, BAILEY S, HEATH D, MACISAAC H, 2014. Performance comparison of genetic markers for high-throughput sequencing-based biodiversity assessment in complex communities. *Molecular Ecology Resources*, 14: 1049–1059.
- ZHANG H, YOSHIZAWA S, IWASAKI W, XIAN W, 2019. Seasonal fish assemblage structure using environmental DNA in the Yangtze Estuary and its adjacent waters. *Frontiers in Marine Science*, 6: 515.
- ZHANG S, LU Q, WANG Y, WANG X, ZHAO J, YAO M, 2020. Assessment of fish communities using environmental DNA: effect of spatial sampling design in lentic systems of different sizes. *Molecular Ecology Resources*, 20: 242–255.

(责任编辑:郭莹)